

DIE ZYTOLOGISCHEN WEISER DES WURZELWACHSTUMS I. DAS WACHSTUM VON SEGMENTEN DER INTAKTEN WURZELSPITZE

von

DR. M. MARÓTI

Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie (Budapest) und Biologische Station (Alsógöd) der Eötvös
Loránd Universität, Budapest

Eingegangen: 10. Oktober 1966

Einleitung

Über das Wachstum und die Entwicklung der pflanzlichen Zellen, Gewebe und Organe steht uns ein umfangreiches Schrifttum zur Verfügung, doch viele ungeklärte Probleme harren noch ihrer Lösung. So sind unter anderem auch die Zusammenhänge zwischen der Entwicklungsstufe und dem Stoffwechselzustand der Zellen noch aufzudecken. Auch die unmittelbare Rolle der „aktiven“ Substanzen, die das Wachstum sowie die Entwicklung der Zellen und letzten Endes der Gewebe auslösen, ist noch nicht völlig bekannt. Ebenso wäre eine genaue Analyse der Wechselbeziehungen erwünscht, die zwischen dem Zellenwachstum und den diesen Prozess anzeigenden Stoffwechselweisern bestehen (Butcher und Street 1964, Heyes und Brown 1965, Stange 1965, Torrey 1965). Deshalb sollte bei den hier erörterten Untersuchungen, die der Entwicklung der Pflanzenzellen gewidmet wurden, unter anderem auch die Verknüpfung von Wachstumsgang und Substanzgehalt der Zellen diverser Entwicklungsstadien eines intakten Pflanzenorgans festgestellt werden. Es wurde nämlich angenommen, daß jedem Zellentwicklungszustand eine charakteristische Stoffwechselstufe entspricht, die vor allem in der gegenseitigen Proportion der einzelnen Verbindungen zum Ausdruck kommt (Brown 1963). Für solche Untersuchungen schien die Wurzelspitze das geeignetste Objekt zu sein, da in ihr – mit zunehmender Entfernung vom Apex – Zellen jedes Entwicklungszustands vorhanden sind und weil das Endstück der Wurzel auch zur zeitlichen Analyse des Zellwachstums herangezogen werden kann (Baldovinos 1953, Hejnowicz 1959, 1961, Maróti 1966, Woodstock und Skoog 1960, 1962). Die vorliegende Arbeit prüft die Zusammenhänge, die zwischen dem Wachstum der Wurzelsegmente einerseits und dem Substanzgehalt sowie seinen zeitlichen Änderungen in den Segmentzellen andererseits zu verzeichnen sind.

Für gewissenhafte technische Hilfeleistungen bei den Versuchen gebührt Frl. E. Nádasz herzlicher Dank.

Material und Methode

Als Versuchsobjekt diente der mit Mv_1 bezeichnete, auch im allgemeinen Anbau verwendete Hybridmais (*Zea mays* L.). Die Körner wurden nach sorgfältiger Selektion an ihrer Oberfläche sterilisiert und in dunstigem Raum in Petrischalen auf Filterpapier zur Keimung angesetzt. Zum Versuch sind nur Keimlinge mit Wurzeln gleicher — 12 bis 14 mm — Länge herangezogen worden, die von der Spitze in Abständen von genau 1 mm mit je einem dünnen Tuschstrich markiert wurden. Die derart vorbereiteten Pflanzen wurden einzelnweise auf mit 1-mm-Gravierung versehene Objektträger gesetzt, mit einem Gummiring befestigt, sodann — um das gerade Wachstum der Wurzel zu begünstigen — schief in Küvetten gestellt, und diese — nachdem auf ihren Boden zur Licherung einer feuchten Atmosphäre 10 cm³ Wasser gegossen wurde — in einem dunklen Thermostat von 28° (± 1)°C Temperatur untergebracht. Die Tuschstriche mußten öfters kontrolliert und wo sie infolge des Wurzelwachstums verblaßten, erneuert werden. Die Inkubationszeit dauerte 10 und 24 Stunden. Zur Feststellung des Wachstums der Wurzelsegmente diente die Gravierung des Objektträgers. Nach erfolgter Längenmessung wurden die Wurzeln bei den Markierungen zerschnitten und auf Grund der hier beschriebenen sowie anderer ähnlichen Analysen (Maróti 1966) das Gewicht und die Zellenzahl der Segmente (Brown 1951) sowie der Gehalt an NS-P (Ogura und Rosen 1950) und Protein-N (Kelley et al. 1946, Thompson und Steward 1952) ermittelt. Die Messung von NS-P und N geschah mit dem Spektrophotometer „Spektromom 360“. Die erhaltenen Daten wurden dann als Gesamtwachstumsleistung und als Zuwachs des bezeichneten Wurzelsegments gesondert vermerkt. Zur Veranschaulichung der Zellentwicklung sind die Angaben des Gewichts, NS-P und Protein-N auch auf eine Zelle berechnet worden.

Zu den Messungen wurde eine große, auch für statistische Bearbeitung genügende Menge an Material verwendet (Snedecor 1956). Die Ergebnisse sind auch in Diagrammen dargestellt.

Ergebnisse

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 1 bis 4 und in den Diagrammen 1 bis 7 aufgezeigt.

Das Wachstum der bezeichneten 1-mm-Segmente von Maiswurzeln wurde 10 und 24 Stunden nach der Markierung abgelesen. Die Versuchsdaten lassen es klar erkennen, daß nur die ersten vier Segmente der Wurzelspitze wachsen bzw. nur diese in die Zone der Zellteilung und -streckung fallen. Das erste Segment an der Spitze erreicht in 10 Stunden eine 230%ige und in 24 Stunden eine 14fache Vergrößerung ihrer Originallänge (1 mm). Das Wachstum des 2. Segments ist noch intensiver, da es während derselben Zeit auf das 5,4- bzw. 17,1fache des ursprünglichen Werts kommt. Die 3. Scheibe wächst schon gehemmt: sie übertrifft in 10 Stunden nur um 120% und in 24 Stunden um etwa 130% ihre anfängliche Länge von 1 mm. Bei der 4. Scheibe kann noch eine geringe, aber bei der 5. weder nach 10 noch nach 24 Stunden irgendeine Verlängerung wahrgenommen werden. Es zeugen also sowohl die gemessenen absoluten Werte wie auch die den Zuwachs deutlich darstellenden Prozentsätze, daß Teilung

und Wachstum nur beim 4 mm langen Spitzenabschnitt vor sich gehen und innerhalb dessen die 2. Scheibe den höchsten Grad der Verlängerung aufweist (Tab. 1, Abb. 1).

Tabelle 1.

Zeitbedingter Längen-, Gewichts- und Zellenanzahlanstieg in den 1-mm-Segmenten der intakten Maiswurzelspitze

(\bar{x} = arithm. Mittel; s = Standardabweichung; SE = Standardfehler des Mittelwerts)

Entfernung von der Wurzelspitze	Dauer der Inku- bation	Längenwachstum (mm)						Frischgewicht (mg)*			Zellenzahl (St. 10 ³)*		
		Gesamtwuchsleistung			Zuwachs		Insge- samt	Zuwachs		Insge- samt	Zuwachs		Insge- samt
		\bar{x}	s	SE	\bar{x}	%		\bar{x}	%		\bar{x}	%	
mm	Std.												
0-1	0	1,0	—	—	—	—	0,84	—	—	79,0	—	—	—
	10	3,3	1,16	0,31	2,3	230	2,69	1,84	219	192,6	113,6	143	—
	24	15,0	1,01	0,40	14,0	1400	13,44	12,59	1493	282,6	203,6	257	—
1-2	0	1,0	—	—	—	—	0,76	—	—	70,5	—	—	—
	10	6,4	1,84	0,49	5,4	540	5,22	4,45	585	164,4	93,9	133	—
	24	18,1	3,02	0,70	17,1	1710	16,44	15,67	2057	295,8	225,3	319	—
2-3	0	1,0	—	—	—	—	0,84	—	—	38,0	—	—	—
	10	2,2	0,71	0,19	1,2	120	1,80	0,95	112	58,0	20,0	53	—
	24	2,3	0,80	0,16	1,3	130	1,96	1,11	131	61,0	23,0	60	—
3-4	0	1,0	—	—	—	—	0,79	—	—	17,0	—	—	—
	10	1,1	0,08	0,03	0,1	10	0,87	0,08	10	18,5	1,5	9	—
	24	1,2	0,08	0,02	0,2	20	0,95	0,16	20	20,0	3,0	18	—
4-5	0	1,0	—	—	—	—	0,81	—	—	15,0	—	—	—
	10	1,0	—	—	—	—	0,81	—	—	15,0	—	—	—
	24	1,0	—	—	—	—	0,81	—	—	15,0	—	—	—

* Berechnete Werte

Das Gepräge und die Proportion der Gewichtsänderungen in den Scheiben sind denen der Längenmaße sehr ähnlich. Dies ist vor allem aus einem Vergleich der prozentualen Werte der Zunahme ersichtlich, indem die drei Spitzensegmente in 10 Stunden etwa das Drei-, Sieben- und Zweifache ihres Anfangsgewichts erreichen. Mit der größten Intensität nimmt die 2. Scheibe zu, bei der 5. ist dagegen kein Anstieg mehr zu verzeichnen, diese hat also die Grenze des Gewichtszuwachses bereits überschritten, worauf übrigens auch der niedrige Wert des 4. Segments hinweist.

Die in der Zellenzahl zutage tretenden Änderungen sind nicht von so hohem Grade wie bei der Längen- und Gewichtszunahme. Die Zahl der Zellen in der 1. Spitzenscheibe erhöhte sich nach 10 Stunden um 143% und nach 24 Stunden um 257%. Bei der 2. Scheibe wurden nach 10 Stunden etwas weniger, nach 24 Stunden jedoch um ein geringes mehr Zellen vorgefunden als bei der ersten während derselben Inkubationszeit. Die Zellenzahl dieser beiden Segmente hatte also in 24 Stunden im Grunde genommen denselben Zuwachs erreicht, nicht nur hinsichtlich seines absoluten, sondern annähernd auch des

prozentuales Werts (400% und 452%). Dies besagt, daß die Basis des 1. (Spitzen-) Segments und der apikale Teil der 2. Scheibe vermutlich über eine identische Teilungspotenz, die gleiche Zahl der sich teilenden Zellen oder über denselben Häufigkeitsrhythmus der Mitose verfügen. Mag auch welcher immer der die Teilung herbeiführenden Ursachen oder ihre Kombination in den beiden Scheiben wirksam sein, die in der Zellenzahl zum Ausdruck gelangende Produktion (Zuwachs) ist von gleichem Wert. Die stärkere Zunahme entfällt auf die

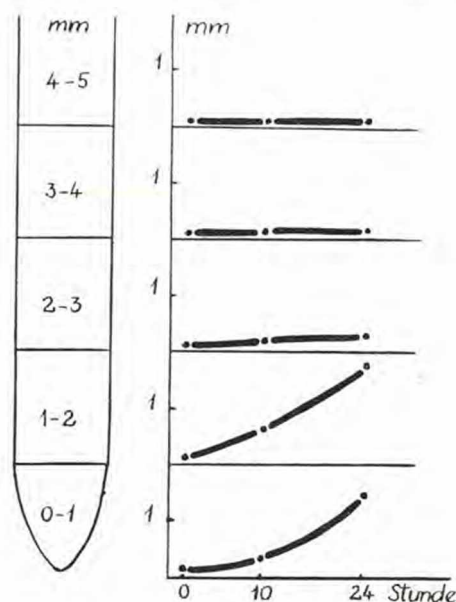


Abb. 1. Längenwachstum der 1 mm-Segmente in der Keimlingswurzel des Mais. Ordinate: Länge; Abszisse: Stunden

über eine niedrige Mitosenhäufigkeit. Das Segment zeigt demnach die basale Grenze der Teilungen an; dies wird auch durch die bei der nächsten (vom 3. bis zum 4. mm reichenden) Scheibe gefundene geringe quantitative Änderung bekräftigt.

Beim 5. Segment läßt sich überhaupt keine Teilung wahrnehmen. Ein Vergleich der Änderungen in der Zellenzahl mit denen der Länge weist darauf hin, daß das Längenwachstum in diesem Wurzelteil nur zu einem geringen Grad durch die Zellteilung bedingt ist, und sich hauptsächlich aus Zellstreckung bzw. -differenzierung ergibt, was auch durch die Gewichtsänderungen erhärtet wird.

Auch die Änderungen des NS-P-Gehalts in den Wurzelscheiben wurden, als Funktion der Inkubationszeiten, berechnet. Das quantitative Verhältnis der beiden Fraktionen blieb im großen und ganzen bei allen vier Segmenten während beider Inkubationszeiten gleich. Die Menge des RNS-P war etwas größer, wie dies bei pflanzlichen Geweben im allgemeinen der Fall ist. Die

zweite, größere Hälfte der Inkubationszeit. Die Feststellung der genauen Verknüpfung des Ergebnisses bzw. des Zuwachsrhythmus mit der Zeit ist jedoch ziemlich schwierig, da weder die Teilung der Zellen noch die später zu behandelnden Änderungen ihres Gehalts im Grunde genommen nicht lokalisiert werden können. Die einzelnen „Zonen“ nähern sich nämlich dem Höchstwert der Teilungsintensität, entfernen sich aber dann wieder von diesem, und inzwischen teilen sich auch die neu entstandenen Zellen. Das Endergebnis kann also als „Zinseszinsen“ gewertet werden.

Die 3. Scheibe (vom 2. bis zum 3. mm) enthält nur sehr wenig Zellen; diesem Umstand und ihrer Lage ist es zuzuschreiben, daß die Vermehrung ebenfalls äußerst gering ist, kaum 53 bis 60% beträgt, und auch die Ergebnisse der beiden Beobachtungszeiten nahe zueinander liegen. Die 3. Scheibe hat also wenig solche Zellen, die sich teilen und auch diese verfügen nur

Änderungen sowohl des RNS-P als auch des DNS-P verliefen im wesentlichen in derselben Weise wie bei den bereits beschriebenen Längen-, Gewichts- und Zellenzahlverhältnissen. Ein Anstieg größeren Ausmaßes war nur im obersten 3-mm-Abschnitt der Wurzelspitze — mit dem stärksten Zuwachs beim 2. mm — zu verzeichnen. Bei mm 3. sind die Werte geringer, sozusagen als Zeichen dafür, daß hier die mit Teilung und Streckung verbundene synthetische Aktivität zum Abschluß gelangt und nur die metabolischen Prozesse der Differenzierung wirksam bleiben. Auch das Phänomen wiederholt sich gesetzmäßig, daß die Änderungen des ersten 2-mm-Abschnitts während der 10stündigen Inkubation nur einen kleinen Teil des 24stündigen Zuwachses ausmachen. Bei mm 3. sind die Änderungen während der beiden Inkubationszeiten nahezu gleich, was soviel bedeutet, daß Rhythmus und Intensität der Änderungen besonders zwischen der 10. und 20. Stunde sehr abnehmen und bei mm 4. fast erlöschen. Der Verlauf der NS-P-Bildung in den untersuchten Segmenten folgt also getreu dem Gang des Wachstums und der Zellenzunahme (Tab. 2.)

Tabelle 2.

Zeitbedingte Änderungen des NS-P- und Protein-N-Gehalts in den 1-mm-Segmenten der intakten Maiswurzelspitze

(\bar{x} = arithm. Mittel; s = Standardabweichung; SE = Standardfehler des Mittelwerts)

Entfernung von der Wurzelspitze	Dauer der Inku- bation	RNS-P* (μ g)			DNS-P* (μ g)			Protein-N* (μ g)			Protein-N RNS-P
		Insgesamt	Zuwachs		Insgesamt	Zuwachs		Insgesamt	Zuwachs		
mm	Std.	\bar{x}	\bar{x}	%	\bar{x}	\bar{x}	%	\bar{x}	\bar{x}	%	
0—1	0	0,41	—	—	0,34	—	—	4,61	—	—	11,21
	10	1,22	0,80	192	0,87	0,53	155	14,07	9,45	205	11,52
	24	3,64	3,22	772	2,16	1,82	535	40,96	37,35	788	11,24
1—2	0	0,36	—	—	0,26	—	—	4,39	—	—	11,98
	10	2,18	1,92	524	1,22	0,96	370	23,62	19,23	437	10,79
	24	3,96	3,59	979	2,31	2,05	787	44,26	39,87	906	11,18
2—3	0	0,32	—	—	0,20	—	—	3,95	—	—	12,24
	10	0,75	0,43	134	0,44	0,23	114	8,25	4,29	108	10,87
	24	0,81	0,49	152	0,48	0,27	131	8,85	4,89	123	10,82
3—4	0	0,37	—	—	0,20	—	—	3,69	—	—	9,75
	10	0,40	0,03	9	0,22	0,01	9	3,99	0,30	8	9,66
	24	0,43	0,06	18	0,23	0,03	18	4,29	0,60	16	9,90
4—5	0	0,30	—	—	0,19	—	—	3,01	—	—	9,87
	10	0,30	—	—	0,19	—	—	3,01	—	—	9,87
	24	0,30	—	—	0,19	—	—	3,01	—	—	9,87

* Berechnete Werte

Die quantitativen Änderungen des Protein-N gleichen am meisten denen der RNS-P-Menge. Der Gehalt des Protein-N übertrifft im allgemeinen zehnfach den des RNS-P. In der 4. und 5. Scheibe bleibt dieses Verhältnis unter 10.

Die gegenseitigen quantitativen Relationen der Segmentgehalte bzw. die Tendenzen ihrer inkubationszeitbedingten Änderungen zeigen ein ähnliches Bild wie die bei den übrigen Stoffwechselweisern gefundenen Proportionen. Dadurch werden die Parallelität und die ursächlichen Zusammenhänge der morphologischen und biochemischen Änderungen in den Wurzelscheiben untermauert.

Die Änderungen der auf eine Zelle berechneten Gewichts-, NS-P- und Protein-N-Werte beleuchten noch besser den Prozess, der mit steigender Entfernung von der Wurzelspitze in Erscheinung tritt. Diese Daten zeigen die Entwicklung der Zellen als Funktion der Zeit auf, stellen also die Parallele zwischen dem Alter und dem Zustand der Entwicklung dar, wodurch wiederum der Gang und die Zeit der Differenzierung veranschaulicht und ihre Lokalisation in der Wurzel angedeutet wird (Tab. 3.).

Tabelle 3.

Zeitbedingte Änderungen des Gewichts, NS-P- und Protein-N-Gehalts je Zelle in den 1-mm-Segmenten der intakten Maiswurzelspitze

Entfernung von der Wurzelspitze mm	Dauer der Inkubation Std.	Frischgewicht/Zelle $\mu\text{g} \cdot 10^{-3}$		RNS-P/Zelle $\mu\text{g} \cdot 10^{-6}$		DNS-P/Zelle $\mu\text{g} \cdot 10^{-6}$		Protein-N/Zelle $\mu\text{g} \cdot 10^{-5}$	
		Insgesamt	Zuwachs	Insgesamt	Zuwachs	Insgesamt	Zuwachs	Insgesamt	Zuwachs
0-1	0	10,68	—	5,23	—	4,31	—	5,83	—
	10	13,96	16,25	6,33	7,06	4,52	4,66	7,30	8,32
1-2	0	10,82	—	5,20	—	3,70	—	6,23	—
	10	31,75	47,48	13,30	20,45	7,46	10,28	14,37	20,48
2-3	0	22,31	—	8,52	—	5,50	—	10,41	—
	10	31,08	47,75	13,08	21,75	7,72	11,95	14,23	21,48
3-4	0	46,68	—	22,00	—	11,82	—	21,44	—
	10	47,24	54,00	21,83	20,00	11,88	12,06	21,56	20,06

Das Gewicht der Wurzelzellen ändert sich mit der Entfernung von der Spitze, also auch mit der Inkubationszeit. Zehn Stunden nach Beginn des Versuchs erhöhte sich das Durchschnittsgewicht der Zellen um etwa 30%. Bei den Zellen des Zuwachses ist der Gewichtsanstieg noch größer, ungefähr 60% und erscheint nur als Durchschnitt geringer. Doch wuchs während dieser Zeit aus der 1 mm dicken Spitzenscheibe ein Segment von 3,3 mm Länge heran. In den Zellen des aus der 2. Scheibe heranwachsenden Segments ist die Gewichtszunahme noch größer und erreicht — auf das Frischgewicht einer Zelle bezogen etwa 200 bzw. 300%. Im 3. Segment ist die Wachstumsrate der Zellen wieder geringer, denn nach den Berechnungen stieg das Anfangsgewicht ($22,31 \times 10^{-3} \mu\text{g}$) nur auf $31,08$ bzw. $47,75 \times 10^{-3} \mu\text{g}$. Diese Werte beweisen ferner, daß die Expansionsintensität der Zellen bereits im Zuwachs der zweiten Scheibe (vom 1. bis zum 2. mm) abnimmt. Diese Tendenz wird bei den Zellen, die sich im Zuwachs der 3. und folgenden Scheiben entwickeln, noch ausgeprägter. Der Expansionsrhythmus der Zellen nimmt also ab, denn im 2. und 3. Segment stieg ihre Originalgröße auf ein Mehrfaches an, beim 4. Segment ist aber dies nicht

mehr der Fall. Das Segment weist ein nahezu unverändertes Gewicht auf, enthält aber weniger Zellen, folglich nahm das Gewicht der letzteren zu. Doch dieses Wachstumstempo wird immer geringer, hört aber — wie es der Verfasser bei anderen Versuchen beobachten konnte — nicht auf, die nach der Zellexpansion einsetzende Differenzierung ist also auch mit entschiedenem synthetischem Stoffwechsel verbunden (Abb. 2.)

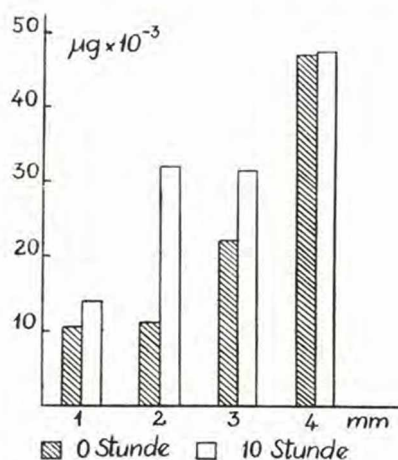


Abb. 2. Gewichtsänderungen in den 1-mm-Segmenten der Keimlingswurzel des Mais. Ordinate: Frischgewicht/Zelle; Abszisse: Segmente

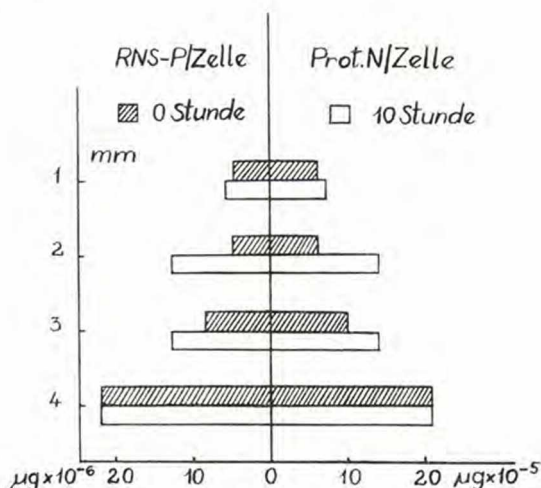


Abb. 3. Änderungen des RNS-P- und Protein-N-Gehalts in den Zellen der 1-mm-Segmente von Maiskeimlingswurzeln

Die auf eine Zelle berechneten Daten der NS-P-Fractionen und des Protein-N liefern eine Grundlage auch zu Folgerungen aus den Gewichtsverhältnissen der Zellen. Der Pro-Zellen-Wert des RNS-P war immer größer als der des DNS-P. Dies ist aus ähnlichen Pflanzenanalysen eine allgemein bekannte Tatsache. Die auf eine Zelle bezogene Menge des RNS-P übertraf im Zuwachs des 1. Segments nur um etwas den im ursprünglichen Segment gefundenen Wert ($5,23 \rightarrow 7,06 \times 10^{-6} \mu\text{g}$). Beim 2. Segment beträgt die Differenz zwischen den beiden Daten fast das Vierfache ($5,20 \rightarrow 20,45 \times 10^{-6} \mu\text{g}$), beim 3. Segment das Zweifache ($8,52 \rightarrow 21,75 \times 10^{-6} \mu\text{g}$). Im 4. Segment war der RNS-P-Gehalt der Zellen vor und nach der Inkubation fast gleich, d. h. es fand keine Zunahme statt. Dieselben Proportionen lassen sich im großen und ganzen auch hinsichtlich des DNS-P- und Protein-N-Gehalts der Zellen in beiden Zeitpunkten der Messung feststellen. Diese zytologischen Weiser erbrachten also, mit der Gewichtszunahme in Verbindung, den Beweis, daß die Wurzelzellen der einzelnen, von der Spitze mehr oder weniger entfernten Segmente unterschiedliche Mengen der geprüften Substanzen enthalten. Der Grad und der Rhythmus ihrer Zunahme ändert sich sowohl mit der Inkubationszeit wie auch mit der Entfernung von der Spitze. Die quantitativen Änderungen dieser Substanzen (NS-P, Protein-N) begründen hinreichend die Größe und Expansion der Zellen

sowie den Zeitpunkt und Ort ihrer Differenzierung. Sie können also Ursachen der Differenzierung sein (Abb. 3).

Die auf die Zeiteinheit berechneten Änderungen in der Länge, im Gewicht und in der Zahl der Zellen sowie die Gestaltung des NS-P- und Protein-N-Gehalts erhärten noch mehr die vorangehenden Feststellungen (Tab. 4). Die Daten der Segmente geben vor allem über die Prozesse des Wachstums, der Teilung und Synthese Aufschluß, deren Verlauf sich aus der Lage der Segmente erklären läßt. Die größte Wachstumsintensität weist das 2. Segment auf. Wollten wir den Zuwachsgrad der ersten vier Segmente mit einer sigmoiden Kurve veranschaulichen, so würde das 1. Segment den langsamen, doch sich beschleunigenden Anstieg, das 2. (mit dem aufsteigenden Ast) das schnelle, das 3. und 4. aber das erlöschende Wachstum darstellen. Die auf Stunden berechnete Zunahme des Zellengehalts bekräftigt ebenfalls das Gesagte. Die Expansion der einzelnen Zellen, die Synthese ihrer biologisch „aktiven“ Substanzen hört mit dem Beginn der Differenzierung nicht aus, obwohl hierbei eine Hydratation hohen Grades in Erscheinung tritt. Die sich morphologisch ändernde Zelle erhält die Grundlage zu ihrer Differenzierung aus der Zunahme des NS-P- und Protein-N-Gehalts, dies wird durch die auf Zeiteinheit berechnete Wachstumsrate des Gewichts, der Länge, Zahl, des NS-P und Protein-N-Gehalts der Zellen deutlich zum Ausdruck gebracht, wie es auch aus den Abbildungen 4 bis 7 ersichtlich ist.

Tabelle 4.

Auf die Zeiteinheit berechneter Zuwachs der Stoffwechselweiser in den untersuchten 1-mm-Segmenten der intakten Maiswurzelspitze

Entfernung von der Wurzelspitze	Dauer der Inkubation	Zuwachs der Segmente an						Zuwachs einer Zelle an			
		Länge	Gewicht	Zellen- zahl	RNS-P	DNS-P	Pro- tein-N	Gewicht	RNS-P	DNS-P	Pro- tein-N
		mm/Std.	mg/Std.	10 ³ St./ Std.	$\mu\text{g}/\text{Std.}$			$\mu\text{g} \cdot 10^{-3}$ /Std.	$\mu\text{g} \cdot 10^{-6}/\text{Std.}$	$\mu\text{g} \cdot 10^{-5}$ /Std.	
0-1	10	0,23	0,18	11,36	0,08	0,05	0,94	1,62	0,70	0,46	0,83
	24	0,58	0,52	8,48	0,13	0,07	1,51	—	—	—	—
1-2	10	0,54	0,44	9,39	0,19	0,09	1,92	4,74	2,04	1,02	2,04
	24	0,70	0,65	9,40	0,15	0,08	1,65	—	—	—	—
2-3	10	0,12	0,09	2,00	0,04	0,02	0,42	4,77	2,17	1,19	2,14
	24	0,05	0,04	0,95	0,02	0,01	0,20	—	—	—	—
3-4	10	0,010	0,008	0,15	0,003	0,002	0,03	5,40	2,18	1,18	2,15
	24	0,004	0,005	0,12	0,002	0,001	0,02	—	—	—	—

Diskussion

Als erstes Problem tritt auch hier die Verlässlichkeit der Daten in den Vordergrund, die bei der Analyse der Wurzelspitzensegmente erhalten wurden. Bei Wurzelanalysen von diversen Pflanzenarten finden wir nämlich sehr unterschiedliche Werte in den einzelnen Segmenten der Wurzelspitze. Diese Unter-

schiede betreffen das Gewicht und die Zellenzahl der Segmente sowie den in ihnen akkumulierten NS-P- und Protein-N-Gehalt, aber auch den Entwicklungszustand und -rhythmus der Zellen, die Größe der Meristem-, Teilungs- und Expansionszonen sowie die Lage ihrer gegenseitigen Übergänge. Über diesbezügliche Ergebnisse berichten mehrere Forscher auf Grund ähnlicher Wurzelanalysen. So führte Avers (1961) Untersuchungen bei *Phleum*, Brown (1959) bei Bohnen, Brown und Naylor (1965) bei *Mimosa*, Brown et

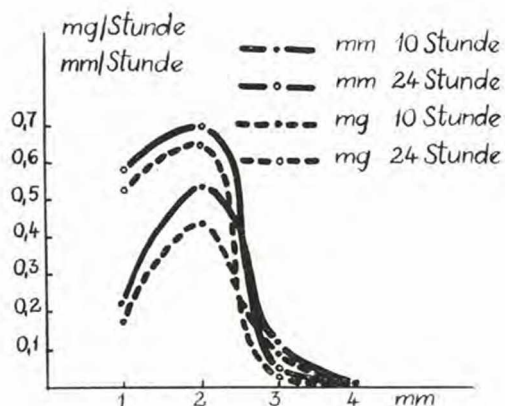


Abb. 4. Längenwachstum und Gewichtsänderungen bei den 1-mm-Wurzelsegmenten der Maiskeimlinge. Ordinate: Gewicht/Std. bzw. Länge/Std.; Abszisse: Segmente

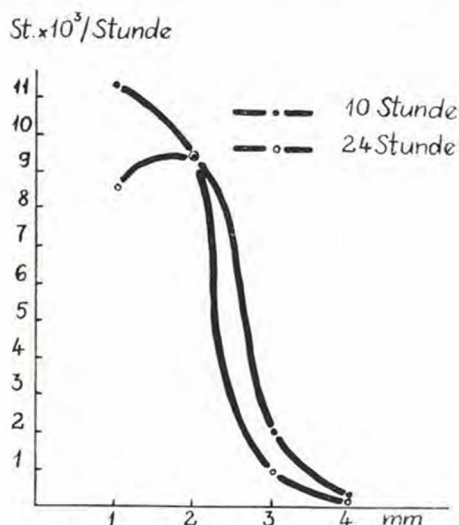


Abb. 5. Änderungen der Zellenzahl in den 1-mm-Segmenten der Maiskeimlingswurzel. Ordinate: Zellenzahl; Abszisse: Segmente

al. (1952) bei Erbse, Bucknall und Sutcliffe (1961) bei Erbse, Holmes et al. (1955) bei *Vicia*, Jensen (1955, 1958) bei *Vicia* und *Allium*, Jensen et al. (1964) bei Zwiebeln, Lyndon (1963) bei Erbse, Thompson (1960) bei *Trillium*, Stange (1965) und Torrey (1965) bei mehreren Pflanzenarten durch. Die artbedingten Unterschiede sind also eindeutig. Aber auch die bei Maiswurzeln erhaltenen Ergebnisse stimmen nicht immer überein, wie dies aus den Arbeiten von Baldovinos (1953), Cook (1959), Erickson und Goddard (1951), Heyes (1960), Stange (1965), Torrey (1965), Woodstock und Skoog (1960, 1962) hervorgeht. Ein Vergleich der Angaben ist ebenfalls nicht leicht und oft sogar unmöglich, weil sie für diverse Forschungsziele und mit unterschiedlichen Methoden erarbeitet wurden. Die Ergebnisse der Wurzelanalysen des Verfassers stimmen der Größenordnung nach mit den Feststellungen von Baldovinos (1953), Erickson und Goddard (1951) sowie Woodstock und Skoog (1960, 1962) gut überein.

Auch kann die Frage gestellt werden, ob Wurzelsegmente zur Untersuchung des Stoffwechsels und der Entwicklung von Zellen tauglich sind. Daß Wurzeln zu Wachstumsuntersuchungen herangezogen werden können, wird von der Literatur in allgemeinen bejaht (Bloch 1961; Butcher und Street 1964; Stange 1965; Torrey 1965; Whaley 1961). Die zitierten Autoren empfehlen zur Feststellung des Zellwachstums in der Wurzel – da eine unmittelbare Messung kaum möglich ist – mehrere indirekte Methoden so z.B. die Kontrolle der Zelldimensionen und Zellenzahl innerhalb eines

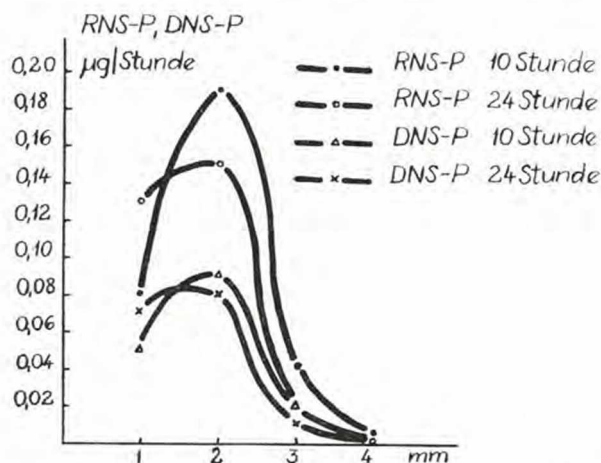


Abb. 6. Zeitbedingte Änderungen des RNS-P- und DNS-P-Gehalts in den 1-mm-Segmenten der Maiskeimlingswurzel. Ordinate: RNS-P/Std., DNS-P/Std.; Abszisse: Segmente

– die Zellenpopulationen unterschiedlicher Stoffwechsel- und Entwicklungslage hinreichend klar voneinander abgegrenzt. Deshalb ist bei Mais die 1-mm-Einteilung für derartige Untersuchungen zweckmäßiger als eine Trennung in 1,6 mm bzw. 2,0 mm lange Scheiben, wie sie von Brown et al. (1952) bzw. von Woodstock und Skoog (1962) angewandt wurde. Bei solchem Vorgehen kommen nämlich sich teilende und erweiternde oder expandierende und sich differenzierende Zellen innerhalb desselben Segments vor.

Die zytologischen Weiser der geprüften Wurzelsegmente lassen erkennen, daß außer den differenzierten Zellen der Wurzelhaube in der Maissorte Mv_1 die erste 1-mm-Scheibe der Wurzelspitze nur Teilungszellen enthält, die das Längenwachstum der Wurzel – wenigstens in den ersten 10 Stunden – nur in einem geringen Grade beeinflussen, wobei die Wachstumsintensität der Scheibe 0,23 mm je Stunde beträgt. Diese mäßige Zuwachs- und Expansionsrate der Zellen wird auch dadurch bewiesen, daß das Gewicht, der NS-P- und Protein-N-Gehalt je Zelle, aber auch der auf die Zeiteinheit bezogene Gewichts- und Substanzmengenzuwachs hier am geringsten sind. Dagegen weist die Änderung der Zellenzahl – besonders in der Zeiteinheit – den höchsten Wert auf; die Feststellung also, daß in der Spitzenscheibe nur Teilung vor sich geht, wird auch

bestimmten Segments. Die Ermittlung der biochemischen Parameter der Segmentzellen, also der qualitativen und quantitativen Verhältnisse gewisser biologisch „aktiver“ Substanzen, ferner die Kontrolle der Atmungsintensität und der Enzymaktivitäten sind ebenfalls wertvolle Weiser der Entwicklung.

Auf Grund der Analyse von 1-mm-Segmenten der Maiswurzel läßt sich die Entwicklung der Zellen in der Wurzelspitze folgendermaßen schildern. Die 1-mm-Segmente haben – der zunehmenden Distanz von der Wurzelspitze entsprechend

von dieser Seite untermauert. Später, von der 10. bis zur 24. Stunde, tritt neben der Teilung auch die Zellenexpansion, als wurzelwachstumsfördernder Faktor, in Erscheinung. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß das Segment von seiner ursprünglichen 1-mm-Länge es auf mehr also 3 mm brachte, in ihm also nicht nur für die Spitzenscheibe charakteristische Prozesse ablaufen.

Das 2. Segment enthielt in den Versuchen die Population der sich intensiv teilenden und erweiternden Zellen. Das Wachstum dieses Wurzelstückes wird demgemäß sowohl durch die Teilung wie auch durch die Expansion beschleunigt: nach 10 Stunden zeigte sich ein 540%iger und nach 24 Stunden ein 1710%-iger Zuwachs. Diese Wachstumsintensität wird auch durch die quantitative Zunahme (Expansion, Synthese) der Zellen sowie die nach Zeitenheit berechneten Werte und sogar die Änderungen der Zellenzahl je Stunde – auf der sigmoiden Kurve des Wurzelwachstums durch den aufsteigenden Ast – angezeigt. Es ist aber eine interessante Erscheinung, daß während die Daten des 1. Segments nach 24stündiger Inkubation – im Vergleich zu denen der 10stündigen – ein Wachstum, also intensiveren Stoffwechsel unter Beweis stellten, das 2. Segment genau gegengesetzte Verhältnisse aufwies, und zwar besonders in den auf die Zeitenheit bezogenen Werten der Zunahme an NS-P und Protein-N. Dies spricht einerseits dafür, daß diese Substanzen die materielle Grundlage der Entwicklung bilden und andererseits, daß bis zu diesem Zeitpunkt das Wurzelstück bereits eine Gesamtlänge von 33 mm erreichte, also größtenteils entwickelte, differenzierte Zellen enthält, was auch bei der Durchschnittsbildung zum Ausdruck kommt. Die Intensität des Stoffwechsels nimmt also ab.

Die letztere Annahme wird auch durch die Daten des 3. Segments bewiesen, weil in diesem das Wurzelwachstum schon gering ist. Auch die Zahl der Zellen nahm hier ab und Teilung kommt nur sporadisch vor. Die neuen – doch wenigen – Zellen werden wahrscheinlich durch die Entwicklung des Kambius geliefert, das die Ausbildung der Leitbahnen und das spätere Dickenwachstum bewirkt. Das Gewicht und die Substanzmenge der einzelnen Zellen haben sich in einem gewissen Grad zwar erhöht, doch zeigt die Änderung auf die Scheibe bezogen keine steigende Tendenz. Im Gegenteil, die auf die Zeiteinheit berechnete Zunahme kommt bei den Zellen zum Stillstand und weist bei den Scheiben eine entschiedene Verringerung auf. Hier geht also das Wachstum seinem Ende zu, die überwiegende Mehrheit der Zellen hat sich differenziert und unterliegt keiner bedeutenden Änderung mehr. Dieser Teil ist etwa 35 mm von der Wurzelspitze entfernt.

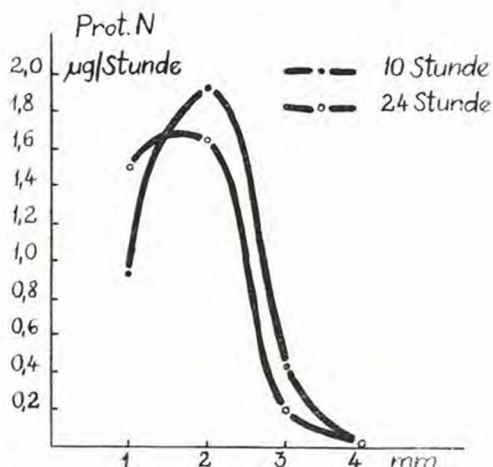


Abb. 7. Zeitbedingte Änderungen des Protein-N-Gehalts in den 1-mm-Segmenten der Maiskeimlingswurzel. Ordinate: Protein-N/Std., Abszisse: Segmente

Für das 4. Segment trifft das über Scheibe 3. Gesagte in erhöhtem Maße zu, da im ersteren nur ein ganz geringes Wachstum beobachtet wurde. Das 5. Segment lag in den Versuchen bereits zu Beginn der Inkubationszeit außerhalb der Zone des „Wachstums“ und entfernte sich von dieser mit der Zeit immer mehr. Hier konnte also weder in der Größe der Scheiben noch in der Substanzmenge der Zellen irgendein Zuwachs verzeichnet werden. Diese Segmente entfernten sich bis zum Abschluß des Versuchs auf 36 bis 37 mm von der Spitze, aber ihre Distanz von dieser betrug schon nach 10 Stunden 10 bis 12 mm.

Die hier gebotene Darstellung über den Entwicklungsgang der einzelnen Segmente und innerhalb dieser der Zellen steht teils im Einklang mit, teils aber im Widerspruch zu den Angaben der Literatur. Baldovinos (1953) bezeichnete 1 mm breite Segmente an der Wurzelspitze des Mais, führte aber die Messungen 3stündlich durch. Er hatte die Wachstumsregion der Wurzelspitze in drei unterschiedliche Zonen geteilt: in die Zone des sich langsam beschleunigenden Wachstums (die auf der Wurzelspitze bei 1 mm liegt), in die Zone des sich plötzlich steigernden Wuchses (zwischen dem 2. und 3. mm) und letztens in die Zone des abnehmenden Zuwachses (bei mm 4). Beim 5. mm gibt es kein Wachstum mehr. Diese Feststellungen decken völlig die Beobachtungen des Verfassers und auch die Ergebnisse der Messungen beider Autoren stimmen im großen und ganzen überein. Baldovinos bemerkt jedoch, daß er bei den vakuolisierten Zellen — im Gegensatz zu mehreren Forschern — keine Teilung wahrnehmen konnte und daher annimmt, ein Scheibenzuwachs könne weder durch Zellstreckung noch durch Zellteilung verursacht werden, und beim 5. mm sind bereits völlig entwickelte Zellen vorhanden. Der letzteren Ansicht kann der Verfasser nur dann zustimmen, sofern sie sich auf das Gepräge, d.h. auf die Differenziertheit, nicht aber auf das Gewicht, den Substanzgehalt, die Atmung und Enzymaktivität der Zelle bezieht, da sich diese Merkmale auch später ändern können. Erickson und Goddard (1951) analysierten millimeterweise in verschiedenen Zeitabschnitten ein 15 mm langes Stück der Wurzelspitze. Nach ihren Angaben befinden sich in der Wurzelspitze tatsächlich drei Zonen unterschiedlichen Stoffwechsels und Wachstums, der sich teilende Abschnitt liegt aber 0,5 bis 2,5 mm vom Apex entfernt. Im Abschnitt vom 4. bis zum 5. mm fanden sie keine Zellteilung mehr, stellten aber die größte Streckungsgeschwindigkeit der Zellen fest (dies haben die Ergebnisse des Verfassers nicht bestätigt). Diese Ergebnisse weichen von denen des Verfassers darin ab, daß sie einerseits in der ersten Zone keine genaue Grenze zwischen dem sich teilenden und dem expandierenden Abschnitt anzeigen und andererseits auch nach dem 4. mm noch über wachsende Zellen berichten. Solche Unterschiede können sich jedoch nicht nur aus sortenbedingten Differenzen, sondern auch äußeren physikalischen Verhältnissen und den Versuchsmethoden ergeben. Die Abweichung besteht im wesentlichen darin, daß die Zone des Wachstums nach Erickson und Goddard länger ist. Ihre Daten über die auf Zeitenheit berechneten Werte des Wachstums, den Teilungsrhythmus sowie die Zuwachsrates der Zellinhalte sind dagegen den Versuchsergebnissen des Verfassers sehr ähnlich. Die Resultate der genannten Autoren stehen also mit der Vorstellung des Verfassers über das Wesen der Zelldifferenzierung nicht im Widerspruch, sondern bekräftigen es. Zu ähnlichen Schlüssen kamen auch Woodstock und Skoog (1960, 1962) in ihren Arbeiten, in denen sie

die Wurzel des Mais untersucht. Der Verfasser erachtet also auf Grund seiner Versuchsserie die von ihm vertretene Annahme als bewiesen, daß der Zusammenhang zwischen der Größe, dem morphologischen Zustand und Substanzgehalt der Zelle sehr deutlich durch die einzelnen Zellen der Wurzelsegmente angezeigt werden, was soviel besagt, daß die Lage und der Zustand der Zelle auch von der Menge ihrer „aktiven“ Substanzen abhängt. Diese Mengen beeinflussen auch den Rhythmus der Entwicklung, indem sie das Wachstum der Zellen beschleunigen oder hemmen und dadurch auch die Wuchseistung des Wurzelstückes bestimmen. Die Versuche geben auch darüber Aufschluß, mit welcher Geschwindigkeit die Zellen mit zunehmender Entfernung von der Spitze die einzelnen Phasen der Entwicklung durchschreiten.

Zusammenfassung

Die Analyse des Wachstums und der Substanzzunahme von bezeichneten 1-mm-Segmenten der intakten Maiswurzelspitze lieferte folgende Feststellungen.

1. Im ersten Millimeterabschnitt der Keimwurzelspitze des untersuchten Hybridmaises ist nur eine Teilung der Zellen zu verzeichnen. Das Wachstum des Segments beträgt hier 0,23 mm/Std. in den ersten 10 und 0,58 mm/Std. in 24 Stunden. Der Teilungsrhythmus ist intensiv und kommt auf 10 000 Zellen je Stunde. Hier findet also hauptsächlich Teilung statt.

2. Im zweiten 1-mm-Segment geht ebenfalls eine Teilung vor sich, doch in der Zellentwicklung setzt auch die Phase des langsamen Wachstums und sogar der schnellen Expansion ein. Die Intensität des Segmentwachstums je Stunde erreicht 0,53 mm bzw. 0,70 mm. Der Teilungsrhythmus nimmt ab und beträgt etwa 9500 Zellen/Std.

3. Im dritten mm-Segment sinkt besonders die Zellteilung ab und hat einen Rhythmus von nur 1500 Zellen/Std., aber auch das der Zellexpansion zuzuschreibende Wurzelwachstum wird geringer. Der Zuwachs des Segments beträgt 0,12 mm/Std. Im vierten und fünften mm-Segment hört das sowohl aus der Teilung wie auch aus der Expansion sich ergebende Wachstum auf; dies ist die sog. stagnierende Phase.

4. Die Substanzzunahme der untersuchten Zellpopulationen in den Wurzelsegmenten zeigt sehr deutlich den Übergang von den sich teilenden Meristemzellen in die entwickelten Zellen. In den Zellen des zweiten mm-Segments erhöht sich nämlich — im Verhältnis zu den Werten des ersten — sowohl das Gewicht wie auch die NS-P- und Protein-N-Synthese der Zellen auf etwa das Dreifache. Zwischen den expandierenden und den entwickelten, sich differenzierenden Zellen besteht ein Unterschied solchen Grades nicht, der Übergang ist kontinuierlicher.

LITERATUR

1. Avers, C. J. 1961: Histochemical localization of enzyme activities in root meristem cells. — *Am. J. Bot.* 48. 137–143.
2. Baldovinos de la Pena, G. 1953: Growth of the root. In Loomis, W. E.: *Growth and differentiation in plants*. 27–54. — Iowa State College Press, Ames.
3. Bloch, R. 1961: General survey. In Ruhland, W.: *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. 14. 1–14. — Springer, Berlin.
4. Brown, R. 1951: The effects of temperature on the durations of the different stages of cell division in the root cells. — *J. Exp. Bot.* 2. 96–110.

5. Brown, R. 1963: Cellular differentiation in the root. — Symp. Soc. Exp. Biol. 17. 1–17.
6. Brown, G. N. — Naylor, A. W. 1965: Quantitative studies of nucleic acids in contrasting zones of tissue differentiation in germinating *Mimosa* seedlings. — Bot. Gaz. 126. 167–174.
7. Brown, R. — Reith, W. S. — Robinson, E. 1952: The mechanism of plant cell growth. — Symp. Soc. Exp. Biol. 6. 329–347.
8. Bucknall, R. A. — Sutcliffe, J. F. 1965: The nucleic acids and cellular differentiation in the root apex of *Pisum sativum*. II. The nucleic acids and cellular development patterns. — J. Exp. Bot. 16. 587–603.
9. Butcher, D. N. — Street, H. E. 1964: Excised root culture. — Bot. Rev. 30. 513–586.
10. Cook, F. S. 1959: Generative cycles of protein and transaminase in the growing corn radicle. — Canad. J. Bot. 37. 621–639.
11. Erickson, R. O. — Goddard, D. R. 1951: An analysis of root growth in cellular and biochemical terms. — Growth. 15. Suppl. 89–116.
12. Hejnowicz, Z. 1959: Growth and cell division in the apical meristem of wheat roots. — Physiol. Plant. 12. 124–128.
13. Hejnowicz, Z. 1961: The response of the different parts of the cell elongation zone in root to external betaindolyacetic acid. — Acta Soc. Bot. Polon. 30. 25–42.
14. Heyes, J. K. 1960: Nucleic acid changes during cell expansion in the root. — Proc. Roy. Soc. B. 152. 218–230.
15. Heyes, J. K. — Brown, R. 1965: Cytochemical changes in cell growth and differentiation in plants. In Ruhland W.: Handbuch der Pflanzenphysiologie. 15/1. 189–212. — Springer, Berlin.
16. Holmes, B. E. — Mee, L. K. — Hornsey, L. — Gray, L. H. 1955: The nucleic acids content of cells in the meristematic elongating and fully elongated segments of roots in *Vicia faba*. — Exp. Cell Res. 8. 101–113.
17. Jensen, W. A. 1955: A morphological and biochemical analysis of the early phase of cellular growth in the root tip of *Vicia faba*. — Exp. Cell Res. 8. 506–522.
18. Jensen, W. A. 1958: The nucleic acid and protein content of root tip cells of *Vicia faba* and *Allium cepa*. — Exp. Cell Res. 14. 575–583.
19. Jensen, W. A. — Pollock, E. G. — Healey, P. — Ashton, M. 1964: Kinetin and the nucleic acid content of onion root tips. — Exp. Cell Res. 33. 523–530.
20. Kelley, O. P. — Hunter, A. S. — Stergers, A. J. 1964: Determination of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium in plant tissue. — Ind. and Eng. Chem. Anal. Ed. 18. 319–322.
21. Lyndon, R. F. 1963: Changes in the nucleus during cellular development in the pea seedlings. — J. Exp. Bot. 14. 419–430.
22. Maróti, M. 1966: A növényi sejtfelődés képesolatos anyagseremutatókkal. (Zusammenhang zwischen der Entwicklung von Pflanzenzellen und den Weisern des Stoffwechsels.) — Diss. Manuskript. Budapest.
23. Ogun, M. — Rosen, G. 1950: The nucleic acids of plant tissue. I. Extraction and estimation of deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. — Arch. Biochem. 75. 262–276.
24. Snedecor, G. W. 1956: Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. — Iowa State College Press, Ames.
25. Stange, L. 1965: Plant cell differentiation. — Ann. Rev. Plant Physiol. 16. 119–140.
26. Thompson, S. H. 1960: Cellular development and morphogeny of the root tip of *Trillium grandiflorum*. — Bot. Gaz. 121. 215–220.
27. Thompson, J. F. — Steward, F. C. 1952: The analysis of the alcohol insoluble nitrogen on plants by quantitative procedures, based on paper chromatography. I. The analysis of certain pure proteins. — J. Exp. Bot. 3. 170.
28. Torrey, J. G. 1965: Physiological bases organisation and development in the root. In Ruhland, W.: Handbuch der Pflanzenphysiologie. 15/1. 1256–1289. — Springer, Berlin.
29. Whaley, W. G. 1961: The growth as a general process. In Ruhland, W.: Handbuch der Pflanzenphysiologie. 14. 71–112. — Springer, Berlin.
30. Woodstock, L. W. — Skoog, F. 1960: Relationships between growth rates and inbred lines of corn. — Am. J. Bot. 47. 713–716.
31. Woodstock, L. W. — Skoog, F. 1962: Distribution of growth nucleic acids, and nucleic acid synthesis in seedling roots of *Zea mays*. — Am. J. Bot. 49. 623–633.